

## 7. 感染病理部

部長 長谷川 秀樹

### 概要

#### 1. 人事等

感染病理部の職員数は現在 13 名で、内訳は部長 1 名、室長 4 名、主任研究官 8 名である。戸山庁舎に 11 名の職員と村山庁舎に 2 名の職員が在籍している。インフルエンザウイルス研究センター第六室、室長の浅沼 秀樹は引き続き感染病理部に併任している。また非常勤職員として、戸山庁舎の電子顕微鏡室に片岡 紀代と小林 宏尚が、村山庁舎の電子顕微鏡室で片岡 紀代が所全体の業務に対応した。戸山では小林 和泉が業務補助を行った。

#### 2. 感染病理部の研究業務

感染病理部で行われた研究・業務の概要は次のとおりである。

### 調査・研究

#### I. 感染病理に関する研究

1. ヒト病理検体におけるレファレンスとしてのウイルス等の感染症に関する研究
2. 感染症の診断に関する研究
3. インフルエンザ感染症に関する研究
4. アジアにおける研究ネットワーク構築と感染症に関する研究
5. 重症熱性血小板減少症候群に関する研究
6. 進行性多巣性白質脳症に関する研究
7. 先天性ジカウイルス感染症に関する研究

#### II. ウイルス感染の発生機序に関する研究

1. ヘルペスウイルスに関する研究
2. ポリオーマウイルスに関する研究
3. 重症肺炎の原因となるコロナウイルスに関する研究

4. 痘瘡ワクチンの細胞培養弱毒生痘そうワクチンの安全性評価における病理学的研究
5. ピコルナウイルスに関する研究
6. HIV に関する研究
7. 狂犬病に関する研究

#### III. ワクチンに関する研究

1. 経鼻インフルエンザワクチンの開発
2. フラビウイルスワクチンの開発
3. HTLV-1 ワクチンの開発
4. ムンプスワクチンの安全性に関する研究
5. 重症肺炎を引き起こすコロナウイルスに対するワクチンの開発

#### IV. プリオンに関する研究

1. 定型・非定型 BSE 由来プリオンに関する研究
2. ウシ等由来原料の基準に関する研究
3. CWD 調査

#### V. 厚生労働省共同利用機器の運用

1. SU6600 形低真空分析走査電子顕微鏡の運用
2. HT7700 形透過電子顕微鏡の運用
3. 見学者対応

#### VI. 機器管理運営委員会機器の運用

1. 村山庁舎透過及び走査電子顕微鏡

### 品質管理に関する業務

1. 検定検査
2. 行政検査

### 国際協力関係業務

## 業績

### I. 誌上发表

1. 欧文発表
2. 和文発表

### II. 学会発表

1. 国際学会
2. 国内学会

## 調査・研究

### I. 感染病理に関する研究

1. ヒト病理検体におけるレファレンスとしてのウイルス等の感染症に関する研究

国内外の医療ならびに医学教育施設との共同研究として生検、手術、剖検組織材料におけるウイルス等の感染症について病理学的に検索している。2017年度人体由来検体数は107症例であった。検索の結果インフルエンザウイルスA感染6例、インフルエンザウイルスB感染3例、JCウイルス感染5例、帯状疱疹ウイルス4例、他にトレポネーマや、アスペルギルス、アメーバなど細菌や真菌によるウイルス以外の病原体における感染症例においても分子生物学的、免疫組織化学的に検索し、共同研究レファレンスとして結果を依頼者に報告した。(佐藤 由子、片野 晴隆、中島 典子、高橋 健太、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹)

2. 感染症の診断に関する研究

病理切片上での *in situ* 核酸検出法の検討

組織切片上で病原体を検出する方法には病原体の蛋白抗原を検出する免疫組織化学と遺伝子核酸を検出する *in situ* hybridization (ISH)法がある。免疫組織化学は安定した検出系となるが、あらたに特異的な抗体を作製しなければならない場合は時間を要し緊急対応は難しい。外来病原体遺伝子を次世代シーケンス法等により同定できるようになった近年、塩基配列情報に基づいて ISH 法用のオリゴヌクレオチドプローブを作成するのは容易である。これまでに我々は、独自に開発した高感度で特異性の高い *in situ* hybridization-AT tailing (ISH-AT)法を中心に市販の

RNA ISH Kit も利用しながら様々な RNA ウイルス拡散の検出を行ってきた。我々は RNA のみでなく DNA ウイルスゲノムの検出が可能な ISH-AT 法を確立し、アデノウイルスゲノムを検出した。現在は B 型肝炎ウイルスの cccDNA を検出することを試みている。(田中 道子、中島 典子、佐藤 由子、長谷川 秀樹)

3. インフルエンザ感染症に関する研究

(1)インフルエンザの行政解剖例の病理学的・分子生物学的解析

2016/2017 シーズンのインフルエンザ関連死亡例で、東京都監察医務院で、行政解剖を施行した10症例について、病理組織学的及び分子生物学的解析を施行した。8例が H3N2 亜型感染例で、2例が A/H1N1pdm09 感染例であった。2009年から A/H1N1pdm09 例が38例、H3N2 例が15例集積されたが、びまん性肺泡傷害(DAD)像を呈したのは A/H1N1pdm09 例で14例(37%)、H3N2 例2例(13%)であり、A/H1N1pdm09 感染のほうが有意に多かった。(中島 典子、佐藤 由子、林 紀乃、濱松 明彦[東京都監察医務院])

(2)A/H1N1pdm09 亜型インフルエンザウイルス感染剖検肺の三次元超微細構造解析

H1N1pdm 亜型インフルエンザウイルス(以下 H1N1pdm)は、ヒト型レセプターである  $\alpha 2,6$ -Gal シアル酸が表出していない肺胞上皮細胞には感染しないため、原則として鳥インフルエンザのような原発性ウイルス肺炎は起こさないが、レセプター親和性に関与するヘマグルチニン(HA)蛋白のアミノ酸変異(D222G)を有する H1N1pdm は、肺胞上皮細胞に表出する鳥型レセプターである  $\alpha 2,3$ -Gal シアル酸に結合し、原発性ウイルス肺炎を起こすことが知られている。HA に D222G 変異を有する H1N1pdm(D222G)ウイルス肺炎の剖検肺組織におけるウイルス粒子、感染細胞の形態、炎症細胞の動き、毛細血管内皮細胞の形態変化を、透過型電子顕微鏡(TEM)と走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて解析した。また、新しい電子顕微鏡技術である連続切片 SEM法を用いた 3D 構造解析をおこない、光学顕微鏡による解析では見いだせなかった重症インフルエンザウイルス肺炎

の病態の解明につながる新しい知見を得た。(片岡紀代、中島 典子、佐藤 由子、石田 欣二[岩手医科大学])

#### 4. アジアにおける研究ネットワーク構築と感染症に関する研究

##### (1)ベトナム、バクマイ病院に入院した呼吸器感染症患者の病原体検索

鳥インフルエンザ“早期確定診断”のためにインフルエンザウイルス研究センター第二室影山らが開発した高病原性鳥インフルエンザウイルスを含む呼吸器感染症を引き起こすウイルスを迅速かつ簡便に同定可能なマルチプレックス RT-LAMP 法と市販の呼吸器感染病原体を同定可能なマルチプレックスリアルタイム RT-PCR 法(FTD33)をベトナムのバクマイ病院に導入し、呼吸器感染症を引き起こす病原体のスクリーニングシステムを構築した。2015 年 6 月より 2017 年 5 月までと集中治療室(ICU)、呼吸器科、感染症科にインフルエンザ様症状で入院したおよそ 300 名の患者より採取した検体を用いて、病原体の解析を行った。Direct RT-LAMP 法はインフルエンザの型・亜型診断においておよそ 90%の陽性一致率であることがわかり、臨床現場での有効性が確認された。(中島 典子、影山 努[インフルエンザウイルス研究センター第二室]、高山 郁代、齊藤 慎二[インフルエンザウイルス研究センター第二室]、Vu Thi Tuong Van[バクマイ病院、ベトナム])

##### (2)ベトナム国立小児病院における鳥インフルエンザとその死因である急性呼吸速迫症候群(ARDS)の病態の解析

鳥インフルエンザウイルスヒト感染症の重要な死因の 1 つである重症 ARDS の病態解明のために、ベトナム国立小児病院・小児集中治療室(PICU)に入院した“肺炎に併発した重症 ARDS”患者 57 例を解析した結果、肺炎の病因病原体の種類や数ではなく、PICU 入院時の血清インターフェロン $\gamma$ 濃度が生命予後の予測因子の候補となることが示された。今年度から対象をすべての小児 ARDS 症例とし、PICU 入室時の酸素化指数、P/F 値と 21 種類のバイオマーカーを解析している。(中島 典子、鈴木 忠樹、Phung TTB、Phan PH[ベトナム国立小児病院])

#### 5. 重症熱性血小板減少症候群に関する研究

##### (1)重症熱性血小板減少症候群剖検症例(SFTS)の病理学的解析

新興感染症である SFTS の発症機構解明にはヒト症例の病理学的解析が重要であり、我々は全国の医療機関と協力して SFTS の病理像を明らかにすべく解析を進めている。SFTS の病理解剖は日本からのみ報告されているが、我々はこれまでに 20 例の剖検例の解析に携わっている。その結果、異型リンパ球様細胞の浸潤が目立つ壊死性リンパ節炎と著しい血球貪食がヒト SFTS の病理学的特徴であり、ウイルスは主にリンパ節の異型リンパ球様細胞を標的としていることが明らかになってきた。2017 年にネコに噛まれた後に発症し死亡した SFTS 患者が報告され、その病理解析を実施したところ、これまで報告のあるダニ刺傷後の SFTS と同様にネコ咬傷後の SFTS においても壊死性リンパ節炎と血球貪食像が見られ、感染経路が変わってもヒト SFTS 発症病理は変化しない事が考えられた。一方、ネコも SFTSV 感染により血小板減少や消化管出血などヒト SFTS と類似した症状を発症している事から、今後、ネコにおける SFTS の病理解析により、ヒト SFTS とネコ SFTS の相同点、相違点を明らかにし、SFTSV による致死性感染の発症機構解明が期待できる。(鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、中島 典子、永田 典代、森川 茂[獣医科学部]、西條 政幸[ウイルス 1 部]、長谷川 秀樹)

#### 6. 進行性多巣性白質脳症に関する研究

##### 進行性多巣性白質脳症の病理組織検体の解析

進行性多巣性白質脳症(PML)の確定診断(definite PML)のためには、生検脳あるいは剖検脳からの組織の病理学的検索が有用である。国立感染症研究所感染病理部では、全国の大学および医療機関から依頼される PML の病理組織検体の検査を行っている。解析では HE 染色と免疫組織化学による形態学的検索に加え JC ウイルス(JCV)ゲノムの遺伝子検索を併用して確度の高い病理組織検査を行い、平成 3 年から平成 29 年 12 月末までに 61 例の PML を検査した。平成 29 年は 15 例の検索依頼があり、7 例で PML とされた。平成 29 年の 7 例の PML 確定時の年齢は平均 60.9 歳で、基礎疾患として自己免疫性疾患

3例、血液系悪性腫瘍が2例、後天性免疫不全症候群が1例に認められた。なお、脳の組織学的検索にてPMLとされた症例の中には、脳組織採取前の脳脊髄液からの検索において、JCV ゲノムが検出限界以下であったものも含まれていた。(高橋 健太、鈴木 忠樹、佐藤 由子、片野 晴隆、長谷川 秀樹)

## 7. 先天性ジカウイルス感染症に関する研究

先天性ジカウイルス感染症のような感染症による先天性異常は妊娠中に起こった急性感染から数ヶ月後に顕在化してくるという性質上、感染と疾病との因果関係や発症機構を明らかにすることは容易ではない。病理組織解析は、このような複雑な病態を呈する新しい感染症に対して、その原因病原体を特定し発症機構の理解と感染症対策に有用な情報を提供することができる強力なツールである。そこで、我々は流行地である南米において、病理組織解析手法を用いてジカウイルスを含む先天性感染症の発生状況を調べる調査を行った。これまでの調査によりブラジル東北部パライバ州のような流行地においてジカウイルス病の実験室診断を行うことは困難で、多くの症例は臨床症状のみにより診断されており、デング熱やチクングニア感染症との鑑別も不十分である事が明らかになった。このように南米における先天性ジカ症候群の実態は未だ全容が明らかになっておらず、今後も継続的な調査研究が必要である。(鈴木 忠樹、飛梅 実、佐藤 由子、中島 典子、片野 晴隆、長谷川 秀樹)

## II. ウイルス感染の発生機序に関する研究

### 1. ヘルペスウイルスに関する研究

#### (1) Epstein-Barr virus (EBV) 陽性新規 plasmablastic lymphoma (PBL) 細胞株の樹立

PBLは形質細胞への分化傾向を示すEBV陽性B細胞性リンパ腫である。われわれは50歳代男性エイズ患者に発症したPBLから細胞株の樹立に成功した。得られた細胞株はIL-6依存性の増殖を示し、EBVゲノムはBARTを含む領域が欠損していた。(峰 宗太郎、比島 恒和[駒込病院]、菅沼 明彦[駒込病院]、福本 瞳、佐藤 由子、片岡 紀代、関塚 剛史[病原体ゲノム解析研究センター]、黒田

誠[病原体ゲノム解析研究センター]、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、深山 正久[東京大学]、片野 晴隆)

#### (2) EBV 関連 B 細胞性リンパ腫におけるウイルスマイクロ RNA の塩基配列

EBVはそのゲノム中に25のマイクロRNAをコードしており、EBV関連疾患の病態に関連するとされる。われわれは6種の組織型を含むEBV関連B細胞性リンパ腫16例からDNAを抽出し、EBVマイクロRNAがコードするDNA領域の塩基配列を解析した。その結果、欠損は認められず、変異は極めて稀であった。このことから、これらの配列がB細胞性リンパ腫中では高度に保存されていることを示した。(砂川 恵伸、比島 恒和[駒込病院]、福本 瞳、長谷川 秀樹、片野 晴隆)

#### (3) 次世代シーケンサーによる EBV 関連 B 細胞性リンパ腫におけるマイクロ RNA の発現プロファイルの解析

5つの組織型のEBV関連B細胞性リンパ腫の臨床検体から、小RNAを抽出し、次世代シーケンサーに全塩基配列を解析した。BHRF1がEBVのlatency IIIに関連すること、マイクロRNAの全プロファイルにより、組織型ごとの発現差異があることが主成分分析等で示された。(坂本 康太、関塚 剛史[病原体ゲノム解析研究センター]、上原 妙子、比島 恒和[駒込病院]、峰 宗太郎、福本 瞳、佐藤 由子、長谷川 秀樹、黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター]、片野 晴隆)

#### (4) KSHV の細胞間接触による再活性化メカニズムの研究

KSHVが潜伏感染したB細胞と接着細胞を共培養すると細胞間接触によりウイルス再活性化が起こることを見出し、メカニズム解明を進めている。実験系の最適化を進め、使用する細胞の種類、細胞数、細胞間接触時間について詳細な検討を行った。KSHV潜伏感染B細胞としては、原発性体腔液性リンパ腫(Primary effusion lymphoma: PEL)細胞株であるBCBL-1とBCBL-1由来のEGFP組換えウイルスを保持しているBCBL-1/rKSHV.152を用いた。また共培養する接着細胞

の検討を行う過程で再活性化誘導能の異なる 2 種類の細胞を見出した。(菅野 隆行、片野 晴隆、長谷川 秀樹)

## 2. ポリオーマウイルスに関する研究

次世代シーケンサーによる JC ウイルスのゲノム変異と進行性多巣性白質脳症の病態の解析

進行性多巣性白質脳症(PML)は JC ウイルス(JCV)により発症する脱髄性の致死性疾患である。感染病理部に解析依頼があり、病理組織学的に PML と確定診断された 6 症例の脳組織より DNA を抽出し、次世代シーケンサーにて JCV ゲノムの変異を解析したところ、いずれの症例においても、早期タンパク質の T 抗原に共通した変異(V392G)を有する株が *quasispecies* として 3-19% に認められた。続いて変異株のウイルスゲノムを作成し、*in vitro* の実験系において野生株と比較したところ、変異株はウイルスタンパク質発現及びウイルス増殖能が著しく低下した。また野生株と変異株を種々の割合で混合した場合、ウイルスタンパク質発現およびウイルス増殖能は保たれた。なお免疫組織化学では、変異株が検出されたいずれの症例の PML 病変部においても T 抗原の発現が認められた。JCV は PML 病変部において、ウイルス増殖に抑制的な作用を有する変異株と共存した状態で増殖していることが明らかとなった。(高橋 健太、関塚 剛史[病原体ゲノム解析研究センター]、福本 瞳[協力研究員]、中道 一生[ウイルス第一部]、鈴木 忠樹、佐藤 由子、長谷川 秀樹、黒田 誠[病原体ゲノム解析研究センター]、片野 晴隆)

## 3. 重症肺炎の原因となるコロナウイルスに関する研究

(1)TMPRSS2 ノックアウトマウスを用いた SARS-CoV および MERS-CoV の病原性に関する研究

膜型セリンプロテアーゼ TMPRSS はヒトの呼吸上皮に発現しており、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス (SARS-CoV) および中東呼吸器症候群コロナウイルス (MERS-CoV) を含むいくつかのヒトコロナウイルスの細胞内侵入に関与することが *in vitro* で確認されている。そこで、TMPRSS2 のコロナウイルス感染に対する役割について、

SARS-CoV および MERS-CoV の感染動物モデルを用いて評価した。その結果、TMPRSS2 を欠いていると SARS-CoV および MERS-CoV の増殖や肺病変を軽減させることが明らかとなった。(岩田 奈織子、岡村 匡史[協力研究員]、関向 華子[研究生]、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、永田 典代)

## 4. 痘瘡ワクチンの細胞培養弱毒生痘そうワクチンの安全性評価における病理学的研究

オルソボックスウイルス感染症の重症化の宿主側要因を明らかにすることを目的として、サル痘ウイルスのマウス感染モデルを作出した。この感染系を利用し、抗 Ly6G 抗体投与による好中球枯渇マウスに対する感染実験を行った。その結果、好中球枯渇群では、感染後の好中球増多と炎症性サイトカイン・ケモカインの高発現を引き起こした。今後、ウイルス感染動態と病像の変化について詳細に解析を進める。(永田 典代、佐藤 由子、岩田 奈織子、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、福士 秀悦[ウイルス第一部]、西條 政幸[ウイルス第一部]、森川 茂[獣医科学部])

## 5. ピコルナウイルスに関する研究

(1)Saffold ウイルスの病原性に関する動物モデルを用いた研究

Saffold virus 上気道炎患者由来株脳内接種後の ddY マウスにおける脱髄病変に着眼し、その病変形成機序を解析している。BALB/c マウスにおいても同様の病変が形成されることを利用し病理学的検索を行った。その結果、ウイルス脳内接種後には脳内アストログリアでウイルスが増殖し、その後、頸髄から腰髄白質に感染伝播し、ミクログリアの活性化が引き起こされると示唆された。(萩原 圭[実習生]、永田 典代、岩田 奈織子、長谷川 秀樹、小谷 治[病原体ゲノム解析研究センター]、清水 博之[ウイルス第二部])

(2)コクサッキーウイルス B2 の病原性に関する動物モデルを用いた研究

出生後早期のコクサッキーウイルス B 群感染症の発症病理には不明な点が多い。2013 年および 2008-2009 年の臨床分離株のウイルス遺伝子配列とマウスにおける感染性と

病原性の関連について詳細に検討した。その結果、2013年分離株はマウスに対し比較的強い病原性を発揮することが示唆された。また、患者由来株経鼻接種後成マウスでは一定の割合で、腭に病変が認められた(5%程度)が、心筋親和性を示唆する所見は認められなかった。(永田 典代、岩田 奈織子、長谷川 秀樹、清水 博之[ウイルス第二部])

### (3)エンテロウイルス D68 の神経病原性に関する動物モデルを用いた研究

まず、エンテロウイルス D68 抗原検出のためのポリクローナル抗体と参照標本を作出した。さらに、EV-D68 感染患者から分離された株を用いて実験動物における感受性を検討した。この際、秋田県において収集された検体のうち、新生仔マウスで分離された株を使用した。これらは初代分離時に新生仔マウスに弛緩性麻痺を引き起こした(秋田県健康環境センター、IASR 2017 年 10 月号)。これらの臨床分離株を 37℃培養条件下で H1HeLa 細胞にて継代したところ、33℃と 37℃において効率よく増殖するウイルスを 4 株得たが、そのうち 1 株が新生仔マウスに対する神経病原性を維持していた。(宮崎 誠[実習生]、齋藤 博之[秋田県健康環境センター]、柴田 ちひろ[秋田県健康環境センター]、荒尾 雄二郎[岡山大学]、岩田 奈織子、長谷川 秀樹、永田 典代、Yen Hai Doan[ウイルス第二部]、清水 博之[ウイルス第二部])

## 6. HIV に関する研究

### (1)MARCH8 のウイルス感染抑制における二つの異なる分子作用機序の解析

我々が先頃報告した抗ウイルス宿主因子 MARCH8(Nat. Med. 2015)は水疱性口炎ウイルス G(VSV-G)および HIV-1 エンベロープ(Env)のウイルス粒子への取込みを阻害するが、細胞質領域リジン変異型 VSV-G は MARCH8 耐性となるのに対し、HIV-1 Env はリジン変異体でも感受性であった。更に野生型 VSV-G は MARCH8 によりユビキチン化されるがリジン変異体ではされず、HIV-1 Env は野生型でもユビキチン化を受けなかった。これは我々が以前、MARCH8 が VSV-G をリソソーム分解へと導くのに対し、HIV-1 Env を細胞内に滞留させるという結果に矛盾しない。

以上より、MARCH8 は二つの異なる分子作用機序による抗ウイルス機能を有することが明らかになった。(徳永 研三、張 延昭[研究生]、藤田 英明[長崎国際大])

### (2)宿主膜タンパク質 MARCH ファミリーメンバーの抗ウイルス活性の解析

上記 MARCH8 以外の MARCH ファミリーメンバーの抗ウイルス活性を検討した結果、MARCH1 および MARCH2 が HIV-1 の感染性を低下させ、その機能には RING-CH 領域が重要であることが分かった。ウイルス産生細胞における両タンパク質の発現によって細胞表面における Env の発現が減少しウイルス粒子中への Env の取込みが抑制された。これら MARCH タンパク質の内在性発現は、1 型インターフェロン(IFN)で処理したマクロファージにおいて顕著に上昇した。今回、MARCH8 に続く抗ウイルス MARCH ファミリーメンバーとして、新たに IFN 誘導型宿主因子 MARCH1 と MARCH2 が加わった。(張 延昭[研究生]、Yao Weitong [研究生・東京医科歯科大]、田中 道子、山岡 昇司[東京医科歯科大]、藤田 英明[長崎国際大]、徳永 研三)

## 7. 狂犬病に関する研究

狂犬病研究の多くは固定毒と呼ばれる実験室継代株を用いて行われる。臨床分離株である kyoto 株と固定毒である CVS・hep-Frely,SED 株の感染細胞でのウイルス抗原の分布ならびにウイルス流出放出部位について検討している。培養細胞を用いた感染実験における間接蛍光抗体法では、固定毒である CVS・hep-Frely,SED 株では糖鎖タンパクである G 抗原は細胞膜上に存在したが、街上毒である Kyoto 株では細胞質に局在した。電子顕微鏡での観察では、固定毒感染細胞の細胞膜から豊富なウイルス粒子放出が観察されるのに対して、街上毒では樹状突起のみからの放出であった。イヌの野外感染例の唾液腺では導管側のみに G 抗原は局在しており、街上毒 G 抗原特異的に結合する宿主因子の存在が示唆される。現在、街上毒ウイルス抗原の局在に関与する宿主因子の同定を進めている。(飛梅 実、佐藤 由子、片岡 紀代[期間業務職員])

## III. ワクチンに関する研究

## 1. 経鼻インフルエンザワクチンの開発

(1)不活化インフルエンザワクチン経鼻接種により誘導される野外株ウイルスに対する抗体応答

2012/13 シーズンの経鼻インフルエンザワクチン臨床研究(ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会承認済み)において、ワクチン接種に誘導された抗体応答を評価した。本研究では、3価全粒子不活化ワクチン(ウイルス株毎に接種あたり 15 µg HA)をカルボキシビニルポリマー存在下で、3週間隔で2回の経鼻接種を行った。近年のA(H3)ワクチン製造株では、開発・継代・製造過程における鶏卵馴化に伴い、その抗原性が野外株から乖離することが問題となっている。そこで、採取・保存された血清と鼻腔洗浄液について、鶏卵未馴化のA/Victoria/361/2011(H3N2)野外株に対する抗体応答を検討した。現行ワクチン皮下接種群と不活化全粒子ワクチン経鼻接種群のいずれにおいても、野外株に対する血清中和抗体価の幾何平均値は同ワクチン製造株に対する幾何平均値より低かった。しかしながら両者に対する血清中和抗体価の上昇倍率は、ほぼ同等である事が明らかになった。これに対して、野外株に対する鼻腔粘膜上の中和抗体は、不活化全粒子ワクチン経鼻接種群でのみ誘導された。以上から、経鼻不活化全粒子インフルエンザワクチンは、鶏卵馴化を経たワクチン製造株のみならず、野外株に対しても、感染の場となる上気道粘膜上において中和抗体を誘導できるワクチンであると考えられた。(相内 章、鈴木 忠樹、川口 晶、池田 千将、泉地 恭輔、岸田 典子\*、浅沼 秀樹\*、渡邊 真治\*、田村 慎一、小田切 孝人\*、田代 真人\*、長谷川 秀樹、\*;インフルエンザウイルス研究センター)

(2)経鼻インフルエンザワクチンで誘導された広域中和抗体の多量体化による活性増強

経鼻インフルエンザワクチン接種によりヒト体内で誘導される抗体をモノクローナル抗体レベルで解析するために経鼻インフルエンザワクチン接種者の末梢血から形質芽細胞を単離した。単離した形質芽細胞の抗体遺伝子を解析したところ、インフルエンザウイルスに対する広域中和抗体でよく見られる遺伝子座由来の抗体が含まれていることを見出した。そこで、既報の広域中和抗体と同じ遺伝子座由来

の抗体遺伝子をクローニングし、IgGもしくはIgAの骨格を有するリコンビナント抗体を作製した。その結果、F11クローンというインフルエンザウイルスに対する中和活性を有する抗体クローンを得ることに成功した。IgG型のF11クローンは中和活性はあるもののHI活性は無かったが、IgA型のF11クローンは中和活性とHI活性を有していることが明らかになった。さらにIgA型F11クローンを多量体化させると抗ウイルス活性が増強することが明らかになった。以上の結果から、経鼻インフルエンザワクチンでヒト体内に誘導される抗体の一部は、IgA型となることでIgG型では無かった新たな抗ウイルス活性機構を獲得しており、さらに多量体化することにより抗体機能を増強させ、経鼻インフルエンザワクチンの有効性発現機序の一端を担っている可能性が考えられた。(佐野 芳[研究生]、齊藤 慎二[インフルエンザウイルス研究センター]、鈴木 忠樹、上野 智規\*、多賀 祐喜\*、Elly van Riet、相内 章、大原 有樹[研究生]、田畑 耕史郎[研究生]、藤井 信[研究生]、高橋 宜聖[免疫部]、後藤 希代子\*、長谷川 秀樹、\*;株式会社ニッピ)

(3)経鼻インフルエンザワクチンにおける細菌由来の外膜小胞(Outer membrane vesicle, OMV)の粘膜アジュバント活性の評価

プロバイオティクスとして海外で使用実績があるE. coli Nissle 1917株由来OMVの、経鼻インフルエンザワクチンにおける粘膜アジュバント活性の可能性を既に見出している。自然免疫を活性化する作用機序の異なる物質をアジュバントとして組み合わせることで、誘導される抗体応答が相乗的に増強する可能性があることから、今回はOMVと合成二本鎖RNA Poly(I:C)を粘膜アジュバントとして併用した際の抗体応答を評価した。BALB/cマウスにインフルエンザウイルスA(H1N1)pdm09由来のスプリットワクチンをOMV並びにPoly(I:C)と共に3週間隔で2回接種した。2回目のワクチン接種から2週間後に、ワクチンと抗原性が相同であるマウス馴化A(H1N1)pdm09であるNarita株の経鼻感染を行い、感染3日後に採材を行い、防御効果を評価した。粘膜アジュバントとしてOMVとPoly(I:C)を併用した際には、誘導される抗体応答は相加的な上昇のみに止まった。また、各々単独では感染ウイルスの増殖抑制効

果が不十分な条件においては、併用することで完全にウイルスの増殖を抑えることができた。(齋藤 訓平[実習生]、相内 章、平山 悟[細菌一部]、中尾 龍馬[細菌一部]、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹)

#### (4)経鼻粘膜投与型ワクチンにおけるインフルエンザウイルスに対する抗原形状依存的抗体応答

粘膜ワクチンである経鼻不活化インフルエンザワクチンは現行の皮下接種ワクチンに比べ高い感染予防効果を有することが期待されている次世代のインフルエンザワクチンである。しかしながら、抗原タンパク質のみの接種では十分な免疫応答を誘導することが出来ず、免疫原性を上昇させるような抗原の改良や粘膜アジュバントの添加が粘膜ワクチン抗原には必要とされている。最近、抗原分子の粒径や粒子形状に依存して免疫応答が変化することが報告されているが、粘膜投与型ワクチンにおいては抗原分子の形状依存的な免疫応答について全く研究が進んでいない。そこで本研究では、生体内で不活性である金ナノ粒子を3種類の形状(球状、三角形、ロッド状)と2種類の異なる表面積を組み合わせた、合計6種類の金ナノ粒子に組み換えヘマグルチニンタンパク質(以下、rHA)を結合させることで粒子化させ、粘膜組織における抗原の形状依存性免疫応答について解析した。rHA 単独接種群では陰性対照群と比較し抗体価およびウイルス力価に有意な変化は認められなかった。一方、金ナノ粒子を用いて粒子化させた rHA 接種群では IgA または IgG 抗体価が有意に高く、ウイルス力価を有意に低かった。特に、球状の金ナノ粒子を用いたワクチン接種群では IgA・IgG 抗体価共に有意に高く、ウイルス力価は有意に低かったことから、粘膜投与型ワクチンにおける最適な抗原形状は球状であると考えられた。(田畑 耕史郎[研究生]、南原 克行\*、佐野 芳[研究生]、相内 章、新倉 謙一\*、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹、\*;北海道大学)

#### 2. フラビウイルスワクチンの開発

VLP(Virus like particle)を用いた次世代デングウイルスワクチンの開発

近年、デングウイルス(DENV)ワクチンとして4価遺伝子組み換え弱毒生ワクチンが南米で実用化されたが、安全性への懸念から接種可能年齢は9歳~45歳に限定されている。一方、デング出血熱やデングショック症候群などの重症 DENV 感染症は、高齢者や妊婦、乳幼児でそのリスクが高いと指摘されており、高齢者や妊婦、乳幼児も接種可能な安全な不活化ワクチンの開発が望まれている。そこで、我々はウイルスの膜タンパク質のみで構成された VLP (Virus Like Particle)を抗原とする DENV ワクチンの開発を目指している。VLP の産生はウイルス増殖に依存せず、増殖能が低いウイルスにおいても大量の抗原製造が可能である。本研究では、タンパク質発現量が高くバイオ医薬品の製造系として実績の多い哺乳類細胞による VLP の発現・精製系を確立し、得られた VLP の免疫原性を評価することを目的とした。CHO細胞を用いて製造した DENV1VLP の免疫原性を7週齢マウスと妊娠マウスを用いて評価し、DENV1VLP は DENV1 に対する中和抗体を誘導できることを明らかにした。今後は、DENV1 型だけでなく、他の型に対する VLP の作成・精製法を確立し、4つの型全てに対して十分な血清中和抗体を獲得できる4価ワクチンの開発を目指す。(藤井 信[研究生]、鈴木 忠樹、佐高 明子[臨時研究補助員]、小島 朝人[客員研究員]、佐野 芳[研究生]、相内 章、長谷川 秀樹)

#### 3. HTLV-1 ワクチンの開発

バキュロウイルス発現系により作製された組換え Env タンパク質を抗原として HTLV-1 ワクチンの開発

HTLV-1 感染症のコントロールのために、HTLV-1 感染予防ワクチンの開発が求められている。Env タンパク質を抗原とした不活化ワクチン開発を目指し、実用的なワクチン抗原製造系として実績のある昆虫細胞タンパク質合成系を用いることで、既に組換え Env タンパク質の作製に成功している。この組換え Env タンパク質の免疫原性に関して、マウスを用いて検討した。BALB/c マウスの皮下に組換え Env タンパク質を3週間隔で2回接種し、最終免疫から2週後に採血を行い、血清中の IgG 抗体応答を評価した。組換え Env タンパク質の接種量依存的に抗体応答は増強し、アジュバントとして水酸化アルミニウムを添加することでさらに強



い応答を得ることができた。また、誘導された抗体は HTLV-1 に関する体外診断薬においても検出されたことから、組換え Env タンパク質は有効なワクチン抗原になる可能性が示唆された。(齋藤 訓平[実習生]、相内 章、鈴木 忠樹、長谷川 秀樹)

#### 4. ムンプスワクチンの安全性に関する研究

マーモセットモデル系を用いたムンプスワクチンの安全性評価に必要な病理学的評価法の確立をおこなっている。ムンプスウイルス野生株の経鼻接種後 2、3 および 5 週目の組織におけるウイルス抗原局在と組織像を検討した。感染 2、3 週目の 3 頭中 1 頭で腭外分泌部、精巣あるいは精巣上体、そして脳室周囲にウイルス感染細胞あるいは感染に伴う炎症が認められた。また、感染 2 週目に唾液腺の腺上皮、腎臓の尿細管の一部で抗原が検出された。よって、感染 5 週目に確認されていた髄膜炎、精巣炎と慢性腭炎は、ムンプスウイルスの感染によって引き起こされたものであると結論づけられた。なお、3 週目の精巣上体管と 5 週目の精巣の曲精細管内に脱落したウイルス抗原陽性細胞が認められ、持続したウイルスの排出が示唆された。(永田 典代、岩田 奈織子、鈴木 忠樹、高橋 健太、長谷川 秀樹、木所 稔[ウイルス第三部])

#### 5. 重症肺炎を引き起こすコロナウイルスに対するワクチンの開発

重症肺炎を引き起こす重症急性呼吸器症候群コロナウイルス(SARS-CoV)に対する感染防御を目的として、新規ワクチンの開発を行っている。免疫原として SARS-CoV のスパイクタンパク質を作製し、SARS-CoV 感染の防御可能な抗原濃度の確認と自然免疫を刺激する金ナノ粒子を混合して免疫した場合、免疫原性が高まるか検討するため、マウスにスパイクタンパク質のみを免疫した群とスパイクタンパク質と金ナノ粒子を混合して免疫した群を準備した。抗原濃度は 1, 0.5, 0.1, 0.05  $\mu\text{g}$  とし、それぞれ 2 週間隔で 2 回免疫し、最終免疫から 2 週間後に攻撃実験を行なった。その結果、抗原濃度 0.05  $\mu\text{g}$  でも SARS 発症を防御することが分かった。しかし、攻撃実験時に 14 週齢以下だったマウスでは金ナノ粒子を混合して免疫した群の生存率は高か

ったが、15 週齢以上となると、タンパク質を免疫した群より生存率が低くなった。この結果はマウスの SARS-CoV に対する免疫応答が週齢によって異なっているためと推測できた。(岩田 奈織子、関向 華子[研究生]、福士 秀悦[ウイルス第一部]、鈴木 忠樹、新倉 謙一[北海道大学]、長谷川 秀樹、永田 典代)

## IV. プリオンに関する研究

### 1. 定型・非定型 BSE 由来プリオンに関する研究

定型 BSE 罹患牛の発生頻度は世界的に収束傾向にある。しかしながら、その生化学的特徴が定型 BSE とは異なる非定型 BSE が報告されている。本邦においても 2 頭の L-type に分類される非定型 BSE 罹患牛が摘発されている。定型および L-type 非定型 BSE をカンクイサルに接種し、中枢神経系の感染病理学的な解析を行った。その結果、L-type BSE 由来プリオン接種サルでは、プリオン病を H30 発症し、その病理増像はヒトの sCJD と同様の組織像を示し、従来の c-BSE にみられる特徴的な所見は無く、孤発性 CJD に類似した。このことから、L-BSE 由来プリオンはヒトへの感染性を有していることが示唆され、その病理像は孤発性 CJD との鑑別が難しいことが示唆された。また、非定型 BSE に分類される H-type についてサルへの接種実験を行っている。(飛梅 実、佐藤 由子)

### 2. ウシ等由来原料の基準に関する研究

生物由来原料を用いる医薬品等については、最終製品の安全性を確保するため、薬事法に基づき、当該生物由来原料に対して細菌やウイルス安全性に係る基準(平成 15 年 5 月 20 日厚生労働省告示第 210 号 生物由来原料基準)を定めている。これにより規制されてきたウシ由来脾臓ならびに胎盤に関するリスク調査を実施し、OIE 基準により「無視できるリスク国」由来のウシで生体検査で異常が認められなかったウシ由来脾臓ならびに胎盤は、プリオンの濃縮が疑われる過程を有さない場合に原料として用いることが可能であるとの結論に至った。この結果は平成 30 年 2 月発布の薬生発 0228 第 1 号、薬生審発 0228 第 1 号、薬生機審発 0228 第 1 号に反映された。(飛梅 実、佐藤 由子、萩原 健一[細胞科学部]、中村 優子[細胞科学部])

### 3. CWD 調査

プリオン病の自然発生が知られている動物種として、ヒトや羊に加えシカが知られている。シカにおけるプリオン病は慢性消耗性疾患(Chronic wasting disease:CWD)として知られており、水平ならびに垂直感染を誘導することが示唆されている。本邦での報告は無いが、北米ならびに韓国での摘発例が知られている。国内ではエゾジカや日本シカ等の固有種ならびに外来種であるキョンの定着が知られている。昨今では野生個体数の増加に伴い積極的な狩猟並びに食への利用が進められており、国内のCWD 清浄確認は急務であり、キョンを対象とした調査を行っている。(飛梅実、佐藤 由子)

## V. 厚生労働省共同利用機器の運用

### 1. SU6600 形低真空分析走査電子顕微鏡の運用

平成 29 年度も順調に運用された。本年度中に処理した検体数は 186 検体で、その内訳は感染研内部 136 検体、共同研究 50 検体であった。(小林 宏尚[期間業務職員])

### 2. HT7700 形透過電子顕微鏡の運用

本年度中の依頼数は 75 件で、樹脂包埋検体数 55 検体、ネガティブ染色数 228 検体であった。(片岡 紀代[期間業務職員])

### 3. 見学者対応

平成 29 年度の電顕室見学者の対応は 23 回、165 名であった。公務員が 95 名、学生 32 名、一般 35 名、外国人 3 名であった。(片岡 紀代[期間業務職員]、小林 宏尚[期間業務職員])

## VI. 機器管理運営委員会機器の運用

### 1. 村山庁舎透過及び走査電子顕微鏡

本年度の透過型電子顕微鏡利用は 9 件(樹脂包埋検体 8、ネガティブ染色数 166)、走査電子顕微鏡は 1 件(検体数 5)であった。また、本年度も Robert Koch 研究所主催の電子顕微鏡学的ウイルス診断の外部評価(External Quality Assurance Scheme in EM Virus Diagnosis EQA-EMV)に参

加し、これを検査実施者の教育訓練の一環とした。依頼者は感染病理部の他、ウイルス第二部、ウイルス第三部、細菌第二部、ゲノムセンター、エイズセンターであった。(片岡 紀代[期間業務職員]、岩田 奈織子、永田 典代、長谷川 秀樹)

## 品質管理に関する業務

### 1. 検定検査

なし

### 2. 行政検査

伝達性海綿状脳症(TSE)スクリーニング検査に関する外部精度管理試験の実施

TSE スクリーニング検査を実施している国内の検査機関に対して、厚生労働省・医薬食品局食品安全部監視安全課からの依頼により、健常マウスおよびスクレーパー感染マウスの脳乳剤を標準検体とした精度管理試験を実施した。統計解析した試験結果を監視安全課へ報告した。(飛梅実、佐藤 由子、長谷川 秀樹、萩原 健一[細胞科学部]、中村 優子[細胞科学部]、花田 賢太郎[細胞化学部])

## 国際協力関係業務

### 1. 永田 典代

JICA 国際研修「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」および「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」において、動物を用いたワクチンの品質管理の内容を紹介した。(平成 30 年 1 月 18 日。於:村山庁舎)

### 2. 中島 典子

ベトナム国立小児病院、バクマイ病院においてインフルエンザ診断および病理学的解析に関する連携研究・技術指導を行った。

エジプトのスエズ運河大学(イスマイリア)、保健省管轄下の中央公衆衛生研究所(Central Public Health Laboratory)において、インフルエンザウイルス型・亜型迅速診断に関する連携研究・技術指導を行った。

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) Willems L, Hasegawa H, Accolla R, Bangham C, Bazarbachi A, Bertazzoni U, Carneiro-Proietti AB, Cheng H, Chieco-Bianchi L, Ciminale V, Coelho-Dos-Reis J, Esparza J, Gallo RC, Gessain A, Gotuzzo E, Hall W, Harford J, Hermine O, Jacobson S, Macchi B, Macpherson C, Mahieux R, Matsuoka M, Murphy E, Peloponese JM, Simon V, Tagaya Y, Taylor GP, Watanabe T, Yamano Y. Reducing the global burden of HTLV-1 infection: An agenda for research and action. *Antiviral Res.* 137:41-48. 2017.
- 2) Iwatsuki-Horimoto K, Nakajima N, Shibata M, Takahashi K, Sato Y, Kiso M, Yamayoshi S, Ito M, Enya S, Otake M, Kangawa A, da Silva Lopes TJ, Ito H, Hasegawa H, Kawaoka Y. The Microminipig as an Animal Model for Influenza A Virus Infection. *J Virol.* 91(2). pii: e01716-16. 2017.
- 3) Kaneko M, Maruta M, Shikata H, Asou K, Shinomiya H, Suzuki T, Hasegawa H, Shimojima M, Saijo M. Unusual presentation of a severely ill patient having severe fever with thrombocytopenia syndrome: a case report. *J Med Case Rep.* 11(1):27. 2017.
- 4) Kawaguchi A, Suzuki T\*, Ohara Y, Takahashi K, Sato Y, Ainai A, Nagata N, Tashiro M, Hasegawa H. Impacts of allergic airway inflammation on lung pathology in a mouse model of influenza A virus infection. *PLoS One.* 12(2):e0173008. 2017. \*Corresponding author
- 5) Hayashi K, Yoshida H, Sato Y, Tobiume M, Suzuki Y, Ariyoshi K, Hasegawa H, Nakajima N. Histopathological Findings of Lung with A/H1N1pdm09 Infection-Associated Acute Respiratory Distress Syndrome in the Post-Pandemic Season. *Jpn J Infect Dis.* 70(2):197-200. 2017.
- 6) Akkina R, Ellerbrok H, Hall W, Hasegawa H, Kawaguchi Y, Kleanthous H, McSweeney E, Mercer N, Romanowski V, Sawa H, Vahlne A. 2016 International meeting of the Global Virus Network. *Antiviral Res.* 142:21-29. 2017.
- 7) Ainai A, Suzuki T, Tamura SI, Hasegawa H. Intranasal Administration of Whole Inactivated Influenza Virus Vaccine as a Promising Influenza Vaccine Candidate. *Viral Immunol.* 30(6):451-462. 2017.
- 8) Fujimoto Y, Hasegawa S, Matsushige T, Wakiguchi H, Nakamura T, Hasegawa H, Nakajima N, Ainai A, Oga A, Itoh H, Shirabe K, Toda S, Atsuta R, Morishima T, Ohga S. Pulmonary inflammation and cytokine dynamics of bronchoalveolar lavage fluid from a mouse model of bronchial asthma during A(H1N1)pdm09 influenza infection. *Sci Rep.* 7(1):9128. 2017.
- 9) Kiso M, Iwatsuki-Horimoto K, Yamayoshi S, Uraki R, Ito M, Nakajima N, Yamada S, Imai M, Kawakami E, Tomita Y, Fukuyama S, Itoh Y, Ogasawara K, Lopes TJS, Watanabe T, Moncla LH, Hasegawa H, Friedrich TC, Neumann G, Kawaoka Y. Emergence of Oseltamivir-Resistant H7N9 Influenza Viruses in Immunosuppressed Cynomolgus Macaques. *J Infect Dis.* 216(5):582-593. 2017
- 10) Suzuki T\*, Ainai A, Hasegawa H. Functional and structural characteristics of secretory IgA antibodies elicited by mucosal vaccines against influenza virus. *Vaccine.* 35(39):5297-5302. 2017. \*Corresponding author
- 11) Sano K, Ainai A, Suzuki T, Hasegawa H. The road to a more effective influenza vaccine: Up to date studies and future prospects. *Vaccine.* 35(40):5388-5395. 2017.
- 12) Okumura A, Saito T, Tobiume M, Hashimoto Y, Sato Y, Umeyama T, Nagi M, Tanabe K, Unoki-Kubota H, Kaburagi Y, Hasegawa H, Miyazaki Y, Yamagoe S. Alleviation of lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced liver injury in leukocyte cell-derived chemotaxin 2 deficient mice. *Biochem Biophys Res.* 12:166-171. 2017.
- 13) Imai M, Watanabe T, Kiso M, Nakajima N, Yamayoshi S, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Yamada S, Ito M,

- Sakai-Tagawa Y, Shirakura M, Takashita E, Fujisaki S, McBride R, Thompson AJ, Takahashi K, Maemura T, Mitake H, Chiba S, Zhong G, Fan S, Oishi K, Yasuhara A, Takada K, Nakao T, Fukuyama S, Yamashita M, Lopes TJS, Neumann G, Odagiri T, Watanabe S, Shu Y, Paulson JC, Hasegawa H, Kawaoka Y. A Highly Pathogenic Avian H7N9 Influenza Virus Isolated from A Human Is Lethal in Some Ferrets Infected via Respiratory Droplets. *Cell Host Microbe*. 22(5):615-626.e8. 2017.
- 14) Moriyama M, Takeyama H, Hasegawa H, Ichinohe T. Induction of lung CD8(+) T cell responses by consecutive inoculations of a poly(I:C) influenza vaccine. *Vaccine*. 35(48 Pt B):6620-6626. 2017.
- 15) Takaki H, Takashima K, Oshiumi H, Ainai A, Suzuki T, Hasegawa H, Matsumoto M, Seya T. cGAMP Promotes Germinal Center Formation and Production of IgA in Nasal-Associated Lymphoid Tissue. *Med Sci (Basel)*. 5(4). pii: E35. 2017.
- 16) Terasaki F, Fukumoto H, Kawata R, Hirose Y, Fujita SI, Katano H, Ishizaka N. A comprehensive search for microbial DNA and RNA in sarcoidosis tissue samples by quantitative polymerase chain reaction. *Infect Dis (Lond)*. 49: 625-627. 2017.
- 17) Takahashi K, Sekizuka T, Fukumoto H, Nakamichi K, Suzuki T, Sato Y, Hasegawa H, Kuroda M, Katano H. Deep-Sequence Identification and Role in Virus Replication of a JC Virus Quasispecies in Patients with Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *J Virol*. 91: e01335-16. 2017.
- 18) Sunagawa K, Hishima T, Fukumoto H, Hasegawa H, Katano H. Conserved sequences of BART and BHRF regions encoding viral microRNAs in Epstein-Barr virus-associated lymphoma. *BMC Res Notes*. 10: 279. 2017.
- 19) Sakamoto K, Sekizuka T, Uehara T, Hishima T, Mine S, Fukumoto H, Sato Y, Hasegawa H, Kuroda M, Katano H. Next-generation sequencing of miRNAs in clinical samples of Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphomas. *Cancer Med*. 6: 605-618. 2017.
- 20) Mine S, Hishima T, Suganuma A, Fukumoto H, Sato Y, Kataoka M, Sekizuka T, Kuroda M, Suzuki T, Hasegawa H, Fukayama M, Katano H. Interleukin-6-dependent growth in a newly established plasmablastic lymphoma cell line and its therapeutic targets. *Sci Rep*. 7(1):10188. 2017.
- 21) Koyama K, Horiuchi N, Hasegawa H, Katano H, Oohashi E, Watanabe K, Kobayashi Y. Cytomegalic Inclusion Disease caused by Cytomegalovirus Infection in the Salivary Glands of an African Hedgehog (*Atelerix arbiventris*). *J Compar Pathol*. 157: 299-302, 2017.
- 22) Itoh N, Katano H, Nakayama SI, Kurai H. Gastric Syphilis. *Intern Med*. 56: 1753. 2017.
- 23) Goto H, Kariya R, Kudo E, Okuno Y, Ueda K, Katano H, Okada S. Restoring PU.1 induces apoptosis and modulates viral transactivation via interferon-stimulated genes in primary effusion lymphoma. *Oncogene*. 36: 5252-5262, 2017
- 24) Awazawa R, Utsumi D, Katano H, Awazawa T, Miyagi T, Hayashi K, Matori S, Uezato H, Takahashi K. High Prevalence of Distinct Human Herpesvirus 8 Contributes to the High Incidence of Non-acquired Immune Deficiency Syndrome-Associated Kaposi's Sarcoma in Isolated Japanese Islands. *J Infect Dis*. 216: 850-858. 2017.
- 25) Egawa K, Shimojima M, Taniguchi S, Nagata N, Tani H, Yoshikawa T, Kurosu T, Watanabe S, Fukushi S, Saijo M. Virulence, pathology, and pathogenesis of Pteropine orthoreovirus (PRV) in BALB/c mice: Development of an animal infection model for PRV. *PLoS Negl Trop Dis*. 11(12):e0006076. 2017.
- 26) Sakata M, Tani H, Anraku M, Kataoka M, Nagata N, Seki F, Tahara M, Otsuki N, Okamoto K, Takeda M, Mori Y. Analysis of VSV pseudotype virus infection

- mediated by rubella virus envelope proteins. *Sci Rep.* 7(1):11607. 2017.
- 27) Taniguchi S, Maeda K, Horimoto T, Masangkay JS, Puentespina R Jr, Alvarez J, Eres E, Cosico E, Nagata N, Egawa K, Singh H, Fukuma A, Yoshikawa T, Tani H, Fukushi S, Tsuchiaka S, Omatsu T, Mizutani T, Une Y, Yoshikawa Y, Shimojima M, Saijo M, Kyuwa S. First isolation and characterization of pteropine orthoreoviruses in fruit bats in the Philippines. *Arch Virol.* 162(6):1529-1539. 2017.
- 28) Iizuka I, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Fukushi S, Ogata M, Morikawa S, Hasegawa H, Mizuguchi M, Kurane I, Saijo M. A Single Vaccination of Nonhuman Primates with Highly Attenuated Smallpox Vaccine, LC16m8, Provides Long-term Protection against Monkeypox. *Jpn J Infect Dis.* 70(4):408-415. 2017.
- 29) Phung TTB, Suzuki T, Phan PH, Kawachi S, Furuya H, Do HT, Kageyama T, Ta TA, Dao NH, Nunoi H, Tran DM, Le HT, Nakajima N. Pathogen screening and prognostic factors in children with severe ARDS of pulmonary origin. *Pediatr Pulmonol.* 52(11):1469-1477. 2017.
- 30) Phan PH, Ngo DT, Ta TA, Kawachi S, Nakajima N, Hirata N, Ainai A, Phung TBT, Tran DM, Le HT. Successful treatment of pneumonia-induced severe ARDS complicated with DIC in two infants using recombinant human thrombomodulin. *Integr Mol Med.* 4(3):1-5. 2017.
- 31) Bhatnagar J, Rabeneck DB, Martines RB, Reagan-Steiner S, Ermias Y, Estetter LB, Suzuki T, Ritter J, Keating MK, Hale G, Gary J, Muehlenbachs A, Lambert A, Lanciotti R, Oduyebo T, Meaney-Delman D, Bolaños F, Saad EA, Shieh WJ, Zaki SR. Zika Virus RNA Replication and Persistence in Brain and Placental Tissue. *Emerg Infect Dis.* 23(3):405-414. 2017.
- 32) Takahata T, Takeda E, Tobiume M, Tokunaga K, Yokoyama M, Huang Y-L, Hasegawa A, Shioda T, Sato H, Kannagi M, Masuda T. Critical Contribution of Tyr15 in the HIV-1 Integrase (IN) in Facilitating IN Assembly and Nonenzymatic Function through the IN Precursor Form with Reverse Transcriptase. *J Virol.* 91:e02003-16. 2017.
- 33) Fukushi S, Fukuma A, Kurosu T, Watanabe S, Shimojima M, Shirato K, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Ato M, Melaku SK, Sentsui H, Saijo M. Characterization of novel monoclonal antibodies against the MERS-coronavirus spike protein and their application in species-independent antibody detection by competitive ELISA. *J Virol Methods.* 251:22-29. 2017.
- 34) Li TC, Yoshizaki S, Kataoka M, Ami Y, Suzaki Y, Doan YH, Haga K, Ishii K, Takeda N, Wakita T. Genetic and physicochemical analyses of a novel ferret hepatitis E virus, and clinical signs of infection after birth. *Infect Genet Evol.* 51:153-159. 2017.
- 35) Ogawa M, Satoh M, Kataoka M, Ando S, Saijo M. Nitric oxide enhanced the growth of an obligated intracellular bacterium *Orientia tsutsugamushi* in murine macrophages. *Microb Pathog.* 107:335-340. 2017.
- 36) Li TC, Yoshizaki S, Kataoka M, Doan YH, Ami Y, Suzaki Y, Nakamura T, Takeda N, Wakita T. Determination of Ferret Enteric Coronavirus Genome in Laboratory Ferrets. *Emerg Infect Dis.* 23:1568-1570. 2017
- 37) Ikeda J, Matsushima A, Ishii W, Goto T, Takahashi K, Nakamichi K, Saijo M, Sekijima Y, Ikeda S. Brain biopsy is more reliable than the DNA test for JC virus in cerebrospinal fluid for the diagnosis of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Internal Medicine.* 56(10):1231-1234. 2017.
2. 和文発表
- 1) 伊崎 祥子, 田中 寛, 田島 孝士, 中道 一生, 西條 政幸, 高橋 健太, 長谷川 秀樹, 野村 恭一. 特発性 CD4+リンパ球減少症と関連シメフロキソンが有効で、変

- 異型ウイルスを証明した小脳・脳幹型進行性多巣性白質脳症の 1 剖検例. *NEUROINFECTION*. 22(1): 162-168. 2017.
- 2) 長谷川 俊史, 松重 武志, 脇口 宏之, 大賀 正一, 長谷川 秀樹, 相内 章, 調 恒明, 戸田 昌一, 熱田 了. MS13-4 A (H1N1) pdm09 感染による重症喘息発作に対するプラシラカスト水和物の予防効果の検討. *アレルギー*. 66(4/5): 585-585. 2017.
- 3) 金城 雄樹, 高塚 翔吾, 仲原 真貴子, 阿部 雅広, 上野 圭吾, 宮武 浩, 朴 貞玉, 明田 幸宏, 常 彬, 相内 章, 鈴木 忠樹, 大島 謙吾, 武田 博明, 川上 和義, 長谷川 秀樹, 大西 真, 生田 和良, 大石 和徳, 宮崎 義継. 肺炎球菌感染症を予防する新規ワクチン ~ 防御免疫誘導機構及び今後の展望 ~. *Host Defense*. 28: 31-31. 2017.
- 4) 長谷川 秀樹. IgA 抗体誘導型経鼻インフルエンザワクチンによる感染症の制御. *実験医学*. 35(7): 1214-1220. 2017.
- 5) 長谷川 秀樹. 粘膜免疫を使った「経鼻ワクチン」. 別冊 *Bio Clinica: 慢性炎症と疾患*. 6(2):80-85. 2017.
- 6) 鈴木 忠樹, 長谷川 秀樹. 先天性ジカウイルス感染症の病理. *化学療法の領域*. 33(8):1602-1608. 2017.
- 7) 長谷川 秀樹. インフルエンザワクチン研究のパラダイムシフト. *インフルエンザ*. 18(2): 73-74. 2017.
- 8) 長谷川 秀樹. インフルエンザの予防. *臨床と微生物*. 44(6):699-703. 2017.
- 9) 長谷川 秀樹. 経鼻不活化および生ワクチンの有効性評価. *インフルエンザ*. 19(1):51-55. 2017.
- 10) 藤井 麻美, 徳住 正隆, 守屋 智枝, 周 円, 加納 宏行, 宮崎 龍彦, 福本 瞳, 片野 晴隆, 清島 真理子. 有棘細胞癌の切除断端に発症した Merkel 細胞癌の 1 例. *臨床皮膚科*. 71: 766-771. 2017.
- 11) 諸岡 雄也, 福本 瞳, 山本 剛, 喜多 修久, 西村 良美, 奥野 英雄, 新井 智, 畠山 邦也, 平田 雅昭, 片野 晴隆, 多屋 馨子. Multivirus real-time PCR によって診断できたヒトパルボウイルス B19 脳炎の 1 例. *NEUROINFECTION*. 22: 144-149. 2017.
- 12) 高橋 健太, 片野 晴隆, 長谷川 秀樹. 神経感染症の

病理. *神経内科 Clinical questions and pearls 神経感染症*. 49-59. 2017.

- 13) 高橋 健太, 鈴木 忠樹, 片野 晴隆, 長谷川 秀樹. PML の脳生検の診断的価値. *神経内科*. 87(4):377-383. 2017.

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

- 1) Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Shimizu Y, Sekimukai H, Fukushi S, Suzuki T, Sato Y, Takeda M, Tashiro M, Hasegawa H, Nagata N. Acute respiratory infection in human dipeptidyl peptidase 4 transgenic mice infected with Middle East respiratory syndrome coronavirus. 14th International Nidovirus Symposium. (USA) 2017.6.
- 2) Nagata N, Iwata-Yoshikawa N, Sekimukai H, Takeda M, Hasegawa H. Identification of the immune response properties of human coronaviruses in mouse models. 14th International Nidovirus Symposium. (USA) 2017.6.
- 3) Sekimukai H, Iwata-Yoshikawa N, Fukuma A, Fukushi S, Tani H, Takeda M, Arai K, Hasegawa H, Nagata N. Expression and characterization of spike proteins of human coronavirus associated with severe pneumonia. 14th International Nidovirus Symposium. (USA) 2017.6.
- 4) Fukushi A, Fukuma A, Tani H, Kurosu T, Taniguchi S, Egawa K, Shimojima M, Shirato K, Matsuyama S, Sekimukai H, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Sentsui H, Saijo M. VSV pseudotype and monoclonal antibody-based assays for determining MERS coronavirus neutralizing antibody responses. 14th International Nidovirus Symposium. (USA) 2017.6.
- 5) Tokunaga K(invited speaker). Virus restriction factor BST-2 and its gene activation by CRISPR technology. The Russian-Chinese Congress on Medical Microbiology, Epidemiology and Clinical Mycology.

- (Russia) 2017. 6.
- 6) Yao W, Tada T, Zhang Y, Fujita H, Yamaoka S, Tokunaga K(speaker). Membrane-associated RING-CH (MARCH) 1 and 2 are other members of MARCH proteins that inhibit HIV-1 infection. 9th IAS Conference on HIV Science. (France) 2017.7.
- 7) Fujita H, Hashimoto R, Takahashi S, Hama M, Fujii Y, Menezes JCMDS, Takahashi H, Takahashi H, Sawasaki T, Motokawa T, Tokunaga K. Tyrosinase is ubiquitinated by RNF152, a membrane associated ubiquitin ligase. XXIII International Pigment Cell Conference. (USA) 2017.8.
- 8) Hasegawa H. Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS) viruses in Japan. The 7th Asia-Pacific Workshop on Multisectoral Collaboration on the Prevention and Control of Zoonoses. (Philippines) 2017.9.
- 9) Tobiume M. Experimental transmission of classical and atypical Bovine Spongiform Encephalopathy to Cynomolgus Macaques. LIKA symposium 2017 UPF/LIKA. (Brazil) 2017.9.
- 10) Hasegawa H, Suzuki T, Tobiume M. Study of placental pathology in pregnant women with suspected congenital infection. (Oral presentation) Symposium of the Pediatric Cardiology Network. (Brazil) 2017.10.
- 11) Hayashi K, Nakajima N, Iwatate S, Asakura K, Hamamatsu A. Severe lung injury associated with A/H1N1pdm09 infection in the post-pandemic season. National Association of Medical Examiners 2017 Annual Meeting. (USA) 2017.10.
- 12) Hasegawa H. Identification of proteins differentially expressed in cancer stem cells (CSCs) of mouse adult T-cell leukemia (ATL) model as a therapy target. The 3rd Special International Symposium on "Current Trends in Cancer and Signaling." (Korea) 2017.11.
- 13) Hasegawa H. Intranasal inactivated influenza vaccine and secretory IgA antibody for influenza control. The 14th US-JAPAN Symposium on Drug Delivery Systems. (USA) 2017.12.
- 14) Hasegawa H. Mucosal vaccine and impact of secretory IgA antibody for influenza virus infection. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 20th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim and Viral Panel Meetings. (China) 2018.1.
- 15) Nakajima N, Phung TTB, Suzuki T, Phan PH, Furuya H, Kawachi S, Le HT. Pathogen Screening and Prognostic Factors in Children with Severe Acute Respiratory Distress Syndrome of Pulmonary Origin. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 20th International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim. (China) 2018.1.
- 16) Hasegawa H. Enhancement of Anti-Viral Effects of Intranasal Inactivated Influenza Vaccine-Derived Broadly Neutralizing Antibody by IgA Polymerization. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology, Antibodies as Drugs: Translating Molecules into Treatments. (Canada) 2018.2.
2. 国内学会
- 1) 長谷川 秀樹. ウイルス性心筋炎の病理とウイルス同定. 第3回日本心筋症研究会. (岐阜) 2017.4.
- 2) 鈴木 忠樹. ウイルス学・病理学的視点:ジカウイルス感染症. 第91回日本感染症学会総会・学術講演会・第65回日本化学療法学会学術集会 合同大会. (東京) 2017.4.
- 3) Takahashi K, Sekizuka T, Fukumoto H, Nakamichi K, Suzuki T, Sato Y, Hasegawa H, Kuroda M, Katano H. Deep-sequence identification and role in virus replication of a JCV quasispecies in PML patients. 第106回日本病理学会総会. (東京) 2017.4.
- 4) 林 紀乃, 濱松 晶彦, 中島 典子, 長谷川 秀樹, 菊地 洋介, 朝倉 久美子, 早川 輝, 呂 彩子, 高田 綾, 齊藤 一之. パンデミックシーズン終息後のA/H1N1pdm09 インフルエンザウイルス感染症の行政解剖例. 第106回日本病理学会総会. (東京) 2017.4.

- 5) 相内 章, 鈴木 忠樹, 川口 晶, 池田 千将, 泉地 恭輔, 岸田 典子, 浅沼 秀樹, 渡邊 真治, 田村 慎一, 小田切 孝人, 田代 真人, 長谷川 秀樹. 皮下ワクチンおよび経鼻ワクチンにより誘導された抗体応答の比較. 第 31 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム. (静岡) 2017.6.
- 6) 佐野 芳, 齊藤 慎二, 鈴木 忠樹, 上野 智規, 多賀 祐喜, van Riet E, 相内 章, 田畑 耕史郎, 藤井 信, 高橋 宜聖, 後藤 希代子, 長谷川 秀樹. インフルエンザウイルスに対する組換え分泌型多量体 IgA 抗体の作製と性状解析. 第 31 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム. (静岡) 2017.6.
- 7) 高橋 健太, 関塚 剛史, 福本 瞳, 中道 一生, 鈴木 忠樹, 佐藤 由子, 長谷川 秀樹, 黒田 誠, 片野 晴隆. 次世代シーケンサーが明らかにした JC ウイルスのゲノム変異と PML の病態. 第 58 回日本神経病理学会総会学術研究会. (東京) 2017.6.
- 8) 相内 章, 鈴木 忠樹, 長谷川 秀樹. バキュロウイルス発現系を用いたワクチン抗原としての組. HTLV-1 Env タンパク質の作製. 第 4 回日本 HTLV-1 学会学術集会. (大阪) 2017.8.
- 9) 中島 典子. 季節性および鳥インフルエンザウイルス感染症の病理. 第 160 回日本獣医学会学術集会. (鹿児島) 2017. 9.
- 10) 岩附 研子, 中島 典子, 木曾 真紀, 高橋 健太, 伊藤 睦美, 井上 貴史, 堀内 真千子, 岡原 則夫, 佐々木 ねりか, 長谷川 秀樹, 河岡 義裕. マーモセットのインフルエンザ感染霊長類モデル動物としての検証. 第 160 回日本獣医学会学術集会. (鹿児島) 2017. 9.
- 11) 長谷川 秀樹. 経鼻不活化インフルエンザワクチンと分泌型 IgA 抗体. 第 44 回日本小児臨床薬理学会学術集会. (静岡) 2017.10.
- 12) Negishi H, Miki S, Nishio J, Yasui M, Miyanaga K, Tanji Y, Sekizuka T, Kuroda M, Ainai A, Hasegawa H, Nakajima Y, Taniguchi T. The role of commensal bacteriophage on the activation of innate immune response. 第 65 回ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
- 13) Fujii M, Suzuki T, Sataka A, Yamaguchi Y, Sano K, Kojima A, Ainai A, Sato T, Hasegawa H. Development of next generation DENV VLP vaccine. 第 65 回ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
- 14) Sano K, Saito S, Suzuki T, Ainai A, Kotani O, van Riet E, Tabata K, Fujii M, Takahashi Y, Ogawa-Goto K, Hasegawa H. Enhancement of anti-viral potencies of an intranasal Influenza vaccine derived broadly neutralizing antibody by IgA polymerization. 第 65 回ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
- 15) Miyazaki M, Saito H, Shibata C, Doan YH, Arai Y, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Shimizu H, Nagata N. Development of a flaccid paralysis mouse model after infection of enterovirus D68. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
- 16) Hagiwara K, Kotani O, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Shimizu H, Nagata N. Clarification of a mechanism of SAFV-induced demyelination in a mouse model. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
- 17) Shimojima M, Taniguchi S, Ami Y, Nagata N, Fukushi S, Kurosu T, Watanabe S, Tani H, Fukuma A, Iwata-Yoshikawa N, Saijo M. A non-human primate model for severe fever with thrombocytopenia syndrome SFTS. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
- 18) Fukushi S, Kurosu T, Watanabe S, Shimojima M, Shirato K, Matsuyama S, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Ohnishi K, Ato M, Sentsui H, Saijo M. Development of competitive ELISA for detecting serologic responses to MERS-CoV using novel monoclonal antibodies against spike protein. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
- 19) Fukuyama S, Iwatsuki-Horimoto K, Shoemaker JE, Nakajima N, Kiso M, Tomita Y, Katsura H, Maemura T, Watanabe T, Sato Y, Suzuki T, Hasegawa H, Kawaoka Y. Impact of aging on the pathogenesis of avian influenza A(H7N9) virus infection in non-human



- primates. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
- 20) Yao W, Zhang Y, Fujita H, Yamaoka S, Tokunaga K. CRISPR-mediated activation of endogenous BST-2 expression blocks wild-type HIV-1 production. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
- 21) Tokunaga K, Yao W, Tada T, Zhang Y, Yamaoka S, Fujita H. Two different mechanisms by which MARCH8 inhibits viral infection. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
- 22) Tobiume M, Nakamura Y, Tokunaga K, Sato Y. Phenotypic characterization of species-specific PrPc using Vole PrPc. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
- 23) Kataoka M, Ishida K, Ogasawara K, Nozaki T, Sato Y, Hasegawa H, Nakajima N. Three-dimensional ultrastructural analysis of autopsy lung with A/H1N1pdm09 infection. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会. (大阪) 2017.10.
- 24) 鈴木 忠樹, 法月 正太郎, 飛梅 実, 長谷川 秀樹. ブラジル東北部における先天性ジカウイルス感染症の疫学と医療事情. グローバルヘルス合同大会 2017. 第 58 回日本熱帯医学会大会・第 32 回日本国際保健医療学会学術大会・第 21 回日本渡航医学会学術集会合同大会. (東京) 2017.11.
- 25) Yao W, 多田 卓哉, 張 延昭, 田中 道子, 山岡 昇司, 藤田 英明, 徳永 研三. 宿主膜タンパク質 MARCH ファミリーメンバーの抗ウイルス活性の解析. 第 31 回日本エイズ学会. (東京) 2017.11.
- 26) 増田 貴夫, 高畑 辰郎, 黄 渝倫, 王 寶 れい, 長谷川 温彦, 徳永 研三, 飛梅 実, 塩田 達雄, 武田 英里, 俣野 哲朗, 横山 勝, 河合 剛太, 佐藤 裕徳, 神奈木 真理. HIV-1 インテグラーゼ非酵素的機能の分子基盤. 第 31 回日本エイズ学会. (東京) 2017.11.
- 27) 佐野 芳, 齊藤 慎二, 鈴木 忠樹, 上野 智規, 多賀祐喜, van Riet E, 相内 章, 田畑 耕史郎, 藤井 信, 高橋 宣聖, 後藤 希代子, 長谷川 秀樹. モノクローナル多量体型 IgA 抗体作製法を用いた分泌型 IgA 抗体の抗インフルエンザウイルス活性の解析. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会. (福岡) 2017.12.
- 28) 相内 章, 鈴木 忠樹, 川口 晶, 池田 千将, 泉地 恭輔, 岸田 典子, 浅沼 秀樹, 渡邊 真治, 田村 慎一, 小田切 孝人, 田代 真人, 長谷川 秀樹. 不活化インフルエンザワクチン経鼻接種により誘導される野外株ウイルスに対する抗体応答. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会. (福岡) 2017.12.
- 29) 鈴木 忠樹, 寺内 芳彦, 相内 章, 齊藤 慎二, 多賀祐喜, 大原 有樹, 山口 喜之, 小田切 孝人, 田代 真人, 後藤 希代子, 長谷川 秀樹. 経鼻不活化インフルエンザワクチン接種により誘導される粘膜抗体の性状解析. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会. (福岡) 2017.12.
- 30) Sekimukai H, Iwata-Yoshikawa N, Fukuma A, Fukushi S, Tani H, Kataoka M, Arai K, Niikura K, Hasegawa H, Nagata N. Development of a vaccine against human coronavirus using gold nanoparticles. 第 40 回日本分子生物学会年会. (大阪) 2017.12.